ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA
Vol. IX. 5 SECTIO D 1954

Z Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej
w Lublinie
Kierownik: prof. kontr. doc. dr med. Stanisław Grzycki

Stanisław GRZYCKI

Arsen i chemiczne związki arsenowe w błonie śluzowej przewodu pokarmowego

Мышьяк и его химические соединения в слизистой оболочке пищеварительного аппарата

Arsenic and its compounds in the mucosa of the digestive system

Losem arsenu i jego chemicznych związków po wstrzykiwaniach dożylnych, domięśniowych i podskórnych zajmowano się niemal od chwili zaliczenia go do środków farmakologicznie czynnych.

Frenkel-Heiden i Navassart, Ullmann, Saccone, Blumenthal, Blumenthal i Jacoby, oraz Müller, Metz i Myers zauważyli, że salwarsan wkrótce po wstrzyknięciu znika z krwiobiegu i zatrzymuje się w rozmaitych narządach, z których następnie wydziela się w ciągu kilku tygodni za pośrednictwem nerek, jelita, wątroby i skóry.

J. Woyciechowski i J. Zalewski badali sprawność wydalniczą nerek po zastrzykach dożylnych arsenobenzolu i wykrywali arsen w moczu próbą chemiczną z dwuchlorkiem rtęci. Ilość wydalonego arszeniku zależna była w pierwszym rzędzie od sprawności narządów osobnika, a następnie od ilości wprowadzonego związku As. Już po 6 minutach od chwili wprowadzenia dożylnie 0,3 g arsenobenzolu wykazywano ślady As w moczu. Po 15 minutach otrzymali maksimum wydalania, które utrzymywało się nawet przez 4—5 dni. Po 10 dniach ilość arsenu malała i ślady jego można było jeszcze chemicznie stwierdzić pomiędzy

20 a 30 dniem. Do podobnych wyników doszli także Autenrieth i Taege, Fischer i Hoppe, Hata i Shiga, Riebes, Mathieu, Underhill i Davis oraz inni.

Bornstein, Sicard i Bloch, Engwer, Riebes, Ullmann, Mathieu i Bergman zwrócili uwagę na przewód pokarmowy, którego ściany zatrzymują prawdopodobnie arsen, można go bowiem wykazać w kale w dużej ilości przez kilka lub kilkanaście dni. Bornstein na 8 dzień po dożylnym podaniu 0,025 g salwarsanu znajdował w moczu i kale 1,5 mg As, w krwi 0,5 mg, a w wątrobie 2,0 mg. Bergmann badał jelita zwierząt, którym wstrzykiwano duże ilości salwarsanu. Tylko w górnych odcinkach przewodu pokarmowego mógł wykazać obecność arsenu, w dolnych natomiast nie znalazł go zupełnie.

Doświadczenia Bernhardta na zwierzętach potwierdziły, że arsen w największej ilości gromadzi się w wątrobie. Znalazł on bowiem 0,006 mg arsenu w wątrobie, takąż samą ilość w jelitach, w skórze i płucach po 0,003 mg As, a w nerkach i mózgu po 0,002 mg.

Voegtlin, Smith, Dyer i Thompson wstrzykując królikom salwarsan, neosalwarsan i srebrowy salwarsan wykazali obecność tych połączeń arsenu przeważnie w ośrodkowym układzie nerwowym. Andreew, Bruhns, Jacobsohn i Sklarz natomiast stwierdzili duże nagromadzenie się arsenu w wątrobie i nerce, a w następstwie tego zwyrodnienie tłuszczowe komórek Kupffera i śródbłonków naczyń włosowatych, w nerce zaś niebarwliwość jąder komórek kanalików krętych i również ich zwyrodnienie tłuszczowe.

Stühmer posługując się odczynem barwnym Ehrlicha-Bertheima doszedł do bardzo ciekawych wyników, na podstawie których uważa, że żołądek i jelito cienkie są najbardziej czynne w wydalaniu arsenu. Jelito grube i błona śluzowa jamy ustnej natomiast są najmniej czynne, stosowany bowiem przez niego odczyn barwny dawał w tych miejscach wynik ujemny zawsze lub prawie zawsze. Stühmer nawet tak daleko posuwa się w swoich twierdzeniach, iż uważa, że salwarsan wydalony całkowicie przez żołądek i jelito cienkie jest chemicznie niezmieniony.

Obecność arsenu, względnie jego chemicznych związków nie pozostaje bez szkodliwego wpływu na błonę śluzową przewodu pokarmowego. Kolmer i Schamberg, podobnie jak i Ala-

dow w badaniach prowadzonych nad psami operowanymi wg metody Pawłowa, obserwowali po dożylnym i domięśniowym podaniu salwarsanu podrażnienie błony śluzowej żołądka i przewodów żółciowych, zahamowanie procesów wydzielniczych gruczołów żołądkowych, przy równoczesnym pobudzeniu komórek nabłonkowych, które nadmiernie wydzielając śluz stwarzały obraz nieżytu ostrego. Herxheimer, Gerlach, Aladow i C. Stern są zdania, że stan zapalny błony śluzowej żołądka i dróg żółciowych ułatwia powstawanie żółtaczki posalwarsanowej.

Także Kochmann, Saccone, Mucha, Mucha i Ketron w doświadczeniach nad zwierzętami zauważyli występowanie ostrych stanów nieżytowych żołądka i jelita połączonych z powstawaniem wybroczyn krwawych i owrzodzeń. Ma to być wynikiem podrażnienia przez arsen naczyń krwionośnych błony śluzowej, następowego zwolnienia prądu krwi, zastoju, martwicy i wreszcie tworzenia się w naczyniach włosowatych skrzepów szklistych.

W żadnej z dostępnych mi prac nie znalazłem jednak odpowiedzi na pytania: 1) które komórki błony śluzowej przewodu pokarmowego wykazują zdolności żerne względem arsenu i jego przetworów, oraz 2) jakie zmiany cytologiczne występują w komórkach nabłonka błony śluzowej pod wpływem podawanych chemicznych związków arsenowych.

W badaniach więc przeprowadzonych nad królikami albinosami zająłem się właśnie tym zagadnieniem, sądząc, że na tej drodze można będzie przynajmniej częściowo wytłumaczyć wpływ arsenu i jego związków na błonę śluzową przewodu pokarmowego.

Materiał i metodyka badań

Badania przeprowadzono nad królikami albinosami, wagi od 2500 do 3200 g. Polegały one na podawaniu per os, względnie na wstrzykiwaniu w tkankę podskórną lub do krwiobiegu w żyłę brzeżną małżowiny usznej arsenu i jego związków chemicznych.

Z połączeń nieorganicznych arsenu użyto do doświadczeń kwas arsenawy i arsenin potasowy (*liquor kalii arsenicosi* s. *Sol. Fowleri*). Z organicznych związków zaś, szeregu benzolowego, użyliśmy novarsenobenzolu i neosalwarsanu.

Kwas arsenawy *(acidum arsenicosum)* podawaliśmy per os w roztworze 0,1% po 1 ccm codziennie przez 20 dni, natomiast roztwór arseninu potasowego *(Sol. Fowleri)* również per os, codziennie o jedną kroplę więcej do 10 kropli, a następnie po 10 i 15 kropli dziennie przez dalszych 10 dni.

Novarsenobenzol i neosalwarsan wlewane były dożylnie co drugi dzień po 0,15—0,30 g w 10 ccm wody dwukrotnie destylowanej. Dawka 0,15 g neosalwarsanu odpowiadała 0,1 g salwarsanu. Wstrzykiwanie tych roztworów w tkankę podskórną lub domięśniowo powodowało zwykle w ciągu kilku lub kilkunastu godzin po dwu i trzykrotnym zastrzyku zatrucie, i zwierzęta padały z objawami krwotocznego zapalenia mózgo-rdzenia.

Trzecią grupę doświadczalną stanowiły zwierzęta, które przez 20 dni otrzymywały arsen i jego chemiczne przetwory. Po pięciu, dziesięciu i trzydziestu dniach od ostatniego zastrzyku, względnie ostatniego podania As pobierano do badań wycinki z okolicy dna żołądka, odźwiernika, jelita cienkiego i jelita grubego. Pobrane tkanki utrwalano wg metody Castela i modyfikacji tej metody opracowanymi przez nas. (G r z y c k i, G r z y c k i i K o b u s ó w n a).

Oprócz tego stosowaliśmy jeszcze metody srebrowe, działając na tkanki amoniakalnym roztworem srebra wg de Asua i Kuhna, oraz Demidowej i Lebiediewa.

Preparaty podbarwiano hemalaunem, eozyną, mucikarminem Mayera, wg metody Zimmermanna, orangem G, eozyną i błękitem toluidynowym wg Dominiciego, błękitem metylu i eozyną wg metody Manna, oraz safraniną i fioletem metylowym wg Hamperla.

Zachowanie się zwierząt doświadczalnych w czasie podawania arsenu i jego związków chemicznych było różne. Zwykle na drugi, lub trzeci dzień oddech stawał się szybszy, zwracało uwagę wyraźne rozszerzenie naczyń krwionośnych na obu małżowinach usznych, utrzymujące się przez kilka godzin, a nawet dni, oraz porażenie obu kończyn tylnych (przeważnie tylko po kwasie arsenawym).

Kilka zwierząt, którym podawano kwas arsenawy i roztwór arseninu potasowego padło w pierwszych dniach (3—18 dzień doświadczenia) wśród objawów zatrucia. Dokonana sekcja przewodu pokarmowego dawała we wszystkich przypadkach obraz ostrego nieżytu żołądka i jelita cienkiego. Błona śluzowa powle-

czona była płynem surowiczo-śluzowym i widoczne na niej były drobne, punkcikowate wybroczynki krwawe. Podobne zmiany można było obserwować także w zatruciu novarsenobenzolem i neosalwarsanem. Króliki padały po kilku lub kilkunastu godzinach ,po jedno- lub dwurazowym zastrzyku dożylnym roztworów NAB i NS w ilości 0,45 i 0,60 g w 10 ccm wody dwukrotnie destylowanej.

Z pierwszych i drugich zatrutych zwierząt pobierano materiał do badań histologicznych.

Badania własne

I.

W pierwszej serii naszych doświadczeń podawano królikom przez 1, 5, 10 i 20 dni arsen oraz jego związki chemiczne, i po upływie 20—24 godzin od ostatniego podania As pobierano materiał do badań histologicznych. W pierwszej grupie umieszczono także króliki, które padły na 3, 7 i 16 dzień z powodu zatrucia kwasem arsenawym, i na 17 i 18 dzień z powodu zatrucia arseninem potasowym.

Nieorganiczne związki arsenu (kwas arsenawy, arsenin potasowy)

Kwas arsenawy w roztworze 0,1% i roztwór Fowlera (arsenin potasowy) podawano per os zawsze z jedzeniem. Jednorazowe podanie nie powodowało żadnych zmian ani w obrazie makroskopowym ani drobnowidowym dna żołądka, odźwiernika, jelita cienkiego i grubego. Barwliwość preparatów dobra. Cytomorfologiczny rysunek komórek nabłonka błony śluzowej bez zmian. Ziarenek arsenu nie znaleziono na żadnym preparacie. Histochemiczne metody Castela, Grzyckiego, Demidowej, Lebiediewa i innych dawały wyniki ujemne.

Dopiero pięciodniowe stosowanie arsenu powodowało zaczerwienienie i przekrwienie błony śluzowej żołądka i odźwiernika, w mniejszym stopniu jelita cienkiego i grubego. Badane odcinki przewodu pokarmowego powleczone były grubą warstwą ciągliwego i szklistego śluzu. W rozmazie śluzu znaleziono niewielką ilość leukocytów (2—3 w polu widzenia). Na preparatach histologicznych z dna i odźwiernika oprócz porozszerzanych i wypełnio-

nych naczyń krwionośnych, oraz porozszerzanych przestrzeni chłonnych w błonie śluzowej i podśluzowej można było zauważyć w tkance podścieliskowej zwiększenie ilości elementów komórkowych, i to przede wszystkim dokoła włośnic krwionośnych i limfatycznych. Komórki te kształtem przypominały właściwe elementy tkanki łącznej, były jednak pośród nich także komórki owalne i wielokształtne o krótszych lub dłuższych, grubszych lub cieńszych wypustkach cytoplazmatycznych. Komórki sąsiadujące nie łączyły się pomiędzy sobą wypustkami, mimo, że występowały w mniej lub więcej licznych grupach. Zachowywały one zawsze swoją indywidualność nie tworząc protoplazmatycznych dróg. Stosunek tych komórek do śródbłonka naczyń włosowatych nie był ścisły, jedne z nich bowiem całą lub prawie całą powierzchnią przylegały do rurek naczyniowych, inne natomiast pozostawały w różnych odległościach od nich. Rozmieszczenie tych komórek było nierównomierne. Najwięcej było ich w tkance łącznej błony śluzowej dna żołądka i odźwiernika, mniej na preparatach z jelita cienkiego, natomiast w ogóle nie znaleziono ich w wycinkach jelita grubego.

Siarczan miedzi względnie dwuchlorek miedzi użyty wg przepisu Castela i naszej modyfikacji wykazał obecność zielonych lub żółto-zielonych drobnych ziarenek zgrupowanych w odcinkach obwodowych cytoplazmy opisywanych komórek. Ilość ziarenek była różna, w jednych komórkach bowiem było ich kilka, w innych zaś dokładnie wypełniały wypustki cytoplazmatyczne. Rozmieszczenie, wielkość i zabarwienie ziarenek przypominały ziarenka arsenu sfagocytowane przez komórki trzeciego elementu ośrodkowego układu nerwowego opisane przez nas w poprzednich pracach nad układem mózgowo-rdzeniowym (G r z y c k i i K o b u s ó w n a). Dla skontrolowania obrazu histologicznego zastosowano także i w tej serii doświadczeń metody srebrowe uzyskując brunatne, żółto-brunatne lub ciemnobrunatne zabarwienie ziarenek. Inne metody barwienia histologicznego, jak np. Dominiciego i Manna dawały wyniki ujemne.

Podobnie barwiące się ziarenka występowały w komórkach śródbłonka włośniczek podnabłonkowych. Ziarenek tych jednak w cytoplazmie było niewiele i tylko dzięki wybiórczemu zabarwieniu siarczanem miedzi łatwo można było odnaleźć je w komórkach.

Oprócz wielokształtnych komórek żernych zauważono obecność zmiennej ilości okrągłych leukocytów obojętnochłonnych i dużych, jasnych komórek przypominających monocyty krwi, o słabo barwiącym się jądrze. Zabarwienie skrawków błękitem toluidynowym pozwoliło prześledzić dodatkowo rozmieszczenie metachromatycznych heparynocytów, które grupowały się przeważnie w pewnej odległości od naczyń krwionośnych w tkance łącznej błony śluzowej i podśluzowej.

Nabłonek walcowaty błony śluzowej wszystkich omawianych odcinków przewodu pokarmowego nie przedstawiał wyraznych odchyleń od normy kontrolnej. Barwliwość komórek na ogół dobra, jądra zasadochłonne o wyraźnym zrębie chromatynowym, jąderka i cytoplazma nieznacznie kwasochłonne. Zwróciły na siebie uwagę pękate komórki śluzowe jelita cienkiego i grubego wypełnione śluzem dającym odczyn metachromatyczny i barwiącym się wybiórczo mucikarminem Mayera. Dodatni odczyn na śluz po zadziałaniu mucikarminu okazała również cytoplazma walcowatych komórek żołądka i odźwiernika, z tym jednak, że zabarwienie było nierówne i nie wszystkie komórki wykazywały zdolność barwienia się tym barwnikiem. Komórki główne i okładzinowe w gruczołach trawiennych barwiły się na kolor niebiesko-szary i żółty, a komórki gruczołowe w odźwierniku wypełnione ziarenkami mucinogenu, na kolor czerwony (metoda Zimmermanna).

Ziarenek arsenu w komórkach nabłonka i gruczołowych nie znaleziono.

W 10 dniu doświadczenia zaczerwienienie i przekrwienie błony śluzowej w badanych odcinkach przewodu pokarmowego było wielkie, przy czym powlekała je wydzielina śluzowo-surowicza obfitująca w leukocyty (5—10 w polu widzenia). Na preparatach histologicznych z dna żołądka, odźwiernika, jelita cienkiego i grubego widziało się pokręcone wężykowato i porozszerzane zatokowato naczynia krwionośne wypełnione krwią. Przestrzenie chłonne w kosmkach jelitowych szerokie, podobnie jak i przestrzenie w tkance błony śluzowej i podśluzowej.

Dokoła naczyń krwionośnych i limfatycznych zgrupowały się komórki wielokształtne, które wyglądem swoim przypominały histiocyty Maximowa. Jądra ich małe, a w cytoplazmie po utrwaleniu odczynnikami Castela widoczne były liczne drobne ziarna zielone lub żółto-zielone. Rozmieszczenie ziarenek As w komór-

kach było nierównomierne, najwięcej jednak znajdowały się one na obwodzie, w mniejszej ilości w strefie przyjądrowej Te ostatnie nawet barwiły się słabiej i były większe. Zwrócono uwagę, że barwliwość jąder malała w miarę zwiększania się ilości ziarenek As. Być więc może, że w ten sposób objawia się zatrucie komórki połączeniami białkowymi arsenu.

Oprócz komórek typu histiocytarnego zauważono również zwiększoną ilość leukocytów i limfocytów, oraz zgrupowywanie się heparynocytów w bezpośredniej bliskości rozszerzonych naczyń krwionośnych.

Komórki śródbłonka naczyń włosowatych podnabłonkowych i błony śluzowej we wszystkich badanych odcinkach były duże, jakgdyby napęczniałe, a jądra ich po największej części barwiły się słabo, albo w ogóle ich nie można było zabarwić. Ilość sfagocytowanych ziarenek As zwykle niewielka, w niektórych komórkach nawet nie udało się ich wykazać.

Komórki nabłonka błony śluzowej w obrębie żołądka i odźwiernika posiadały duże ziarna mucinogenu, inne natomiast w $^2/_3$ wypełnione były jednorodną masą śluzową, która spychała jądro i cytoplazmę ku podstawie. Barwienie się jąder tych ostatnich komórek słabe, a nawet czasem niemożliwe. Obserwowano także niebarwiące się pęcherzyki drobniutkich wodniczek, które zjawiając się w cytoplazmie w różnej ilości i wielkości mogą świadczyć albo o przyspieszonym procesie przemian protoplazmatycznych, albo o rozpoczynającym się w komórce procesie dezorganizacyjnym.

W 20 dniu doświadczenia obraz histologiczny wycinków przewodu pokarmowego nie wiele różnił się od poprzednio opisanego. Zasadnicze różnice wystąpiły tylko w morfologii śródbłonka naczyń włosowatych, którego komórki mimo, iż nie można w nich było wykazać ziarenek kwasu arsenawego lub arseninu potasowego, miały wygląd mniej lub więcej obrzękłych, zamykających światło naczyń, jasnych i niedających się barwić metodami histologicznymi.

W okolicy naczyń o zmienionym śródbłonku widziało się również bardzo dużo leukocytów, limfocytów oraz komórek typu histiocytarnego zawierających duże ziarna zielono zabarwione. W niektórych nawet komórkach tego typu jądra się nie barwiły, a cała cytoplazma dawała delikatny dodatni odczyn barwny po zabarwieniu wg Castela, i naszej I i II modyfikacji.

Skrawki histologiczne wycinków pobranych ze zwierząt, które padły zatrute kwasem arsenawym w 3, 7 i 16 dniu, przypominały obrazy obserwowane w 20 dniu doświadczenia. Dokładne jednak przeglądnięcie większej ilości preparatów żołądka i jelita cienkiego zwróciło uwagę na obecność małych punkcikowatych wybroczyn krwawych w obrębie błony śluzowej, oraz nadżerek krwawych otoczonych martwiczym i odpadającym nabłonkiem. W nabłonku tym nie udało się żadną metodą cytochemiczną wykazać ziarenek arsenu, podczas gdy w komórkach histiocytarnych i w niezniszczonych śródbłonkach naczyń włosowatych prawie zawsze były one widoczne. Wybroczyn i nadżerek krwawych nie znaleziono w błonie śluzowej jelita grubego.

Wybroczyn i nadżerek nie widziało się także w błonie śluzowej żołądka, jelita cienkiego i grubego u zwierząt zatrutych arseninem potasowym w 17 i 18 dniu doświadczenia. Błona śluzowa tych odcinków przewodu pokarmowego miała wygląd typowy dla stanu ostrego zapalenia z przekrwieniem czynnym i nadprodukcją śluzu. Wszystkie komórki nabłonka dawały bowiem dodatni odczyn Mayera i Zimmermanna, przy równoczesnej niedostatecznej barwliwości jąder. Komórki gruczołowe natomiast, a szczególnie ziarnistości komórek głównych w gruczołach żołądkowych okazywały nadbarwliwość przy barwieniu safraniną i fioletem metylu wg Hamperla. Ziarenek arsenu ani w jednych, ani drugich komórkach nie udało się wykazać wg metod Demidowej, Lebiediewa, Kuhna, Castela i naszych modyfikacji z dwuchlorkiem miedzi i siarczanem miedzi. Arsenin potasowy mający wygląd drobniutkich żółto-zielonych lub brunatnych ziarenek nagromadzony był przede wszystkim w komórkach typu histiocytarnego i leukocytach, oraz w śródbłonku naczyń włosowatych, o ile tylko komórki nie wykazywały charakterystycznych zmian dla zatruć arsenowych. Jak można było zauważyć w ciągu całego doświadczenia ilość sfagocytowanych ziarenek arsenu w komórkach śródbłonka zwiększała się z każdym dniem w miarę podawania kwasu arsenawego lub arseninu potasowego, przy czym obecność ich nie pozostawała bez mniejszego lub większego wpływu na protoplazmę i jądro tych komórek. Wydaje się nam także, że nie znalezienie ziarenek arsenu w komórkach zmienionych nie zaprzecza obecności arsenu ukrytego albo nieznanych związków arsenowo-białkowych, których wykazanie znanymi metodami histochemicznymi

jest trudne lub niemożliwe, jak również nie zaprzecza możliwości istnienia w nich tylko czynnika trującego, który powstając pod wpływem trucizn doprowadzonych z zewnątrz powoduje dezorganizację w przemianie i dynamice cytoplazmy i jądroplazmy.

II.

Organiczne związki arseno-benzolowe (Novarsenobenzol, Neosalwarsan)

Z organicznych związków arsenu szeregu benzolowego stosowano Novarsenobenzol (L. L. Spiess)) i Neosalwarsan (Bayer). Wstrzykiwane one były dożylnie co drugi dzień w dawkach po 0,15 i 0,30 g, natychmiast po rozpuszczeniu w 10 ccm wody dwukrotnie destylowanej. W ten sposób w przeciągu 20 dni wprowadzono dożylnie jednym królikom 1,50 g, a drugim 1,80 g NAB i NS. Zarówno króliki po novarsenobenzolu, jak i po neosalwarsanie były zdrowe, przybyły nawet na wadze po 200—300 gramów. Wycinki przewodu pokarmowego: żołądka, jelita cienkiego i grubego pobrano do badań histologicznych i histochemicznych w 1, 10 i 20 dniu doświadczenia.

Na wszystkich niemal preparatach od pierwszej chwili doświadczenia można było obserwować obecność zielonych, żółtozielonych lub brunatnych drobnych ziarenek arsenu w komórkach śródbłonka naczyń włosowatych błony śluzowej, przy czym już w 10 dniu (0,90 NS i NAB) wystąpiła niebarwliwość jąder śródbłonka, oraz zjawiały się w cytoplazmie malutkie, nie dające się zabarwić wodniczki. W tym także czasie w bezpośredniej bliskości naczyń włosowatych nagromadziły się w dużej ilości leukocyty i komórki typu histiocytarnego zawierające również liczne ziarenka dające dodatni chemiczny odczyn Castela, Demidowej i naszych modyfikacji.

W 20 dniu doświadczenia (1,50 i 1,80 NS i NAB) komórki śródbłonka naczyń miały wygląd obrzękłych, w niektórych miejscach zamykały nawet światło naczynia, a ich jądra i wodniczkowata cytoplazma trudno się barwiły, albo w ogóle się nie barwiły hemalaunem + eozyną, orangem G + eozyną i błękitem toluidyny wg Dominiciego, oraz błękitem metylu i eozyną wg Manna. Zmiany cytofizjologiczne i obrzęk komórek śródbłonka naczyń powodowały miejscowe zaburzenia w krążeniu prowadzące do

przekrwienia błony śluzowej i podśluzowej żołądka, jelita cienkiego i grubego, a tym samym do zjawienia się w podścieliskowej tkance łącznej licznych leukocytów i heparynocytów. Wybroczynek krwawych i nadżerek w błonie śluzowej i podśluzowej w żadnym preparacie nie znaleziono.

Nabłonek błony śluzowej przewodu pokarmowego pozostał prawie nie zmieniony, komórki wysokie, smukłe, jądra owalne, zwykle zepchnięte ku podstawie przez liczne ziarna mucinogenu. W 10 i 20 dniu doświadczenia, szczególnie po wstrzykiwaniach neosalwarsanu ilość ziarenek mucinogenu była olbrzymia, tak iż niejednokrotnie odnosiło się wrażenie, że komórkę wypełnia jednorodna masa śluzowa. Obrazy te świadczyły o zwiększonej czynności wydzielniczej tych komórek. Podobnie i w komórkach gruczołów trawiennych i odźwiernikowych żołądka, oraz gruczołów jelita można było obserwować zwiększenie i przyspieszenie procesów wydzielniczych, na co wskazywały wyraźne odczyny barwne po zastosowaniu metod Zimmermanna i Hamperla. Ani w komórkach nabłonka błony śluzowej, ani w komórkach gruczołów nie udało się wykazać ziarenek arsenu, niemniej jednak obserwowane obrazy histologiczne przyspieszenia procesów przemian w komórkach mogą być prawdopodobnie wynikiem podrażnienia czynnikami toksycznymi wprowadzonymi i naniesionymi drogą krwi.

III.

Trzecią grupę doświadczeń tworzyły zwierzęta, które otrzymywały przez 20 dni chemiczne związki arsenu, a następnie po 5,10 i 30 dniach od ostatniego zastrzyku, względnie od ostatniego podania arsenu per os były sekcjonowane i wycinki przewodu pokarmowego pobierano do badania. Z nieorganicznych związków arsenu był użyty roztwór arseninu potasowego (razem 150 kropli), a z organicznych związków szeregu benzolowego tylko neosalwarsan (razem 1,50 g).

Okres pozostawania arsenu w ustroju zwierzęcia mierzony mniej lub więcej długą przerwą, jaka powstaje od chwili ostatniego podania per os, lub zastrzyku, był opracowywany tylko przez nielicznych autorów. Chociaż B a u m i H e r r e n h e i s e r, F r e n k e l, H e i d e n i N a v a s s a r t, a także F i s c h e r i H o p p e, oraz F i s c h e r i Z e r n i c k mogli nawet po siedmiu i dziesięciu

miesiącach wykazać obecność arsenu po zastrzykach domięśniowych, to jednak J a n c s o już po upływie 24 godzin nie znajdował arsenu w badanych przez siebie tkankach. D e m i d o w a używając metody srebrowej potrafiła w 144 godzinie zabarwić ziarenka arsenu w komórkach czynnej mezenchymy. Podobnie i z poprzednich naszych badań wynika, że zielone ziarenka arsenu można wykazać nawet po 30 dniach w komórkach Kupffera, w komórkach śledziony i w komórkach śródbłonków naczyń włosowatych rdzenia kręgowego oraz kory i istoty białej podkorowej mózgu. Obserwowane w śródbłonkach naczyniowych ziarenka kompleksowych połączeń arsenu z miedzią, były już prawdopodobnie połączeniami biologicznie nieczynnymi, brak bowiem było w komórkach zmian zwyrodnienia tłuszczowego charakterystycznego dla zatruć ostrych.

Obserwacje te w zupełności pokrywały się z wynikami jakie otrzymano badając po 5, 10 i 30 dniach wycinki żołądka, jelita cienkiego i grubego zwierząt, które otrzymały arsenin potasowy i neosalwarsan. W cytoplazmie komórek śródbłonków naczyń włosowatych błony śluzowej i podśluzowej można było zabarwić ziarenka arsenu wszystkimi stosowanymi w tej pracy odczynnikami histochemicznymi, Ilość ziarenek jednak była niewielka, a dodać należy, że już w 30 dniu znajdowały się one nie we wszystkich komórkach śródbłonka. Same komórki były duże, jak gdyby obrzękłe, mimo tego zachowywały one barwliwość cytoplazmy i jąder.

W komórkach walcowatych pokrywających błonę śluzową, a także w komórkach gruczołowych widziało się stopniowy powrót do stanu fizjologicznej sprawności i równowagi, a w preparatach po arseninie potasowym można było nawet obserwować stosunkowo liczne kariokinetyczne podziały tych komórek. Barwliwość komórek i wyniki różnicowań po zastosowaniu metod Zimmermanna, Mayera, Hamperla i innych nie przedstawiały różnic w porównaniu z preparatami kontrolnymi.

Ukrwienie błony śluzowej i podśluzowej po 10 i 30 dniach było w granicach spotykanych u królików kontrolnych, mała ilość leukocytów i heparynocytów. Komórki typu histiocytarnego widziano we wszystkich preparatach, nie we wszystkich jednak komórkach można było wybarwić ziarenka arsenu. Nawet w 30 dniu doświadczenia tu i ówdzie, a przede wszystkim w okolicy naczyń włosowatych znajdowały się komórki żerne obładowane zielonymi lub brunatnymi ziarenkami.

Omówienie wyników badań

Arsen i jego związki, bez względu na sposób podawania jest zawsze wychwytywany i magazynowany śródplazmatycznie przez komórki czynnej mezenchymy odpowiednich tkanek. Znajdowaliśmy go bowiem w komórkach Kupffera, w śródbłonkach zatok i włośnic śledziony, w histiocytach wędrujących i osiadłych tkanki podskórnej i skóry właściwej, w śródbłonkach naczyń włosowatych płuc, serca i nerek. W ośrodkowym układzie nerwowym zdolności żerne względem arsenu i jego przetworów ujawniły przede wszystkim śródbłonki naczyń włosowatych istoty szarej i białej mózgu, móżdżku i rdzenia kręgowego, a następnie mezoglejowe komórki Hortegi. W błonie śluzowej i podśluzowej przewodu pokarmowego w naszych doświadczeniach widziało się zabarwione ziarenka arsenu nie tylko w śródbłonkach naczyń włosowatych, ale także i we wszystkich komórkach typu histiocytarnego tkanki łącznej podścieliskowej. Widziało się nawet całkowite zniszczenie śródbłonka i powstawanie małych, punkcikowatych wybroczyn krwawych.

Dokoła zatokowato porozszerzanych naczyń krwionośnych i limfatycznych zgrupowywały się zwykle wielokształtne komórki żerne, oraz leukocyty, limfocyty i heparynocyty. Ziarenka arsenu można było wykazać tylko w komórkach histiocytarnych, przy czym barwliwość ich jąder i cytoplazmy malała w miarę zwiększania się ilości As. Być więc może, że w ten sposób przedstawiało się zatrucie komórek połączeniami białkowymi arsenu, które prowadzi w ostateczności do porażenia zdolności żernych i obronnych układu komórek czynnej mezenchymy. Z podobnym zanikiem barwliwości jąder i cytoplazmy łącznie z daleko posuniętymi zmianami morfologicznymi spotkaliśmy się również w komórkach śródbłonków włośnic. Zmiany te potęgowały się w zależności od ilości i czasu zalegania arsenu w komórkach.

J. Schumacher sądzi, że arsen łączy się z lipoproteinami i kwasem nukleinowym komórki, co prowadzi z jednej strony do zniszczenia struktury jądra, a z drugiej strony do dezorganizacji przemiany materii wyrażającej się zmianami wstecznymi. Voegtlin, Dyer i Leonard wykonując doświadczenia nad pierwotniakami i komórkami tkanek zwierzęcych (szczury białe) doszli do wniosków, że trujące działanie tlenków arsenawych polega na tworzeniu chemicznych związków pomiędzy arsenem a arsenocep-

torem protoplazmatycznym. Arsenoceptorami są cystyna, cysteina jako charakterystyczny składnik glutationu, oraz inne związane i wolne związki posiadające grupy SH, przy czym te ostatnie mają mieć znaczenie wybiórcze. Oliver i Douglas natomiast działając salwarsanem na plazmę króliczą o różnych punktach izoelektrycznych pH, w której wytrącono jony wapnia za pomocą szczawianu sodu, przekonali się, że ilość związanego chemicznie salwarsanu zależy od stężenia jonów wodorowych. Przy pH = 4,9 białko nie wiązało chemicznie arsenu, pH = 7,5 można było wykryć tylko ślady związków, a przy pH = 9,8 już dostateczne ilości salwarsanu były związane.

Niewątpliwie wszystkie te zapatrywania nie są pozbawione słuszności, niemniej jednak na podstawie naszych dotychczasowych obserwacji wydaje się, że arsen po bezpośrednim zetknięciu się z komórką tworzy połączenia chemiczne z białkami protoplazmy i jądra, w wyniku których powstają trujące białczany arsenu. Białczanów arsenu na razie jakimikolwiek barwnymi metodami cytochemicznymi wykryć nie można, ilość ich jednak jest wprost proporcjonalna do postępu i jakości zmian morfologicznych i fizjologicznych komórki. Zmiany te zaś są odwrotnie proporcjonalne do możliwości wykazywania arsenu niezwiązanego. Białczany arsenu bowiem dezorganizują przemianę materii i zmieniają wartość dynamiczną jądrowo-protoplazmatycznych przemian komórkowych.

Ziarenek arsenu w komórkach nabłonka błony śluzowej i w komórkach gruczołowych cewy pokarmowej nie znaleziono. Istniejące jednak pewne odchylenia w cytomorfologii i cytofizjologii nabłonka i gruczołów wyrażające się w jednych komórkach nadbarwliwością i zwiększeniem ilości ziarnistych struktur cytoplazmatycznych, a w innych natomiast zmniejszeniem ilości, lub nawet całkowitym zniknięciem ich łącznie z wystąpieniem procesów dezorganizacyjnych i zmian martwiczych, świadczyć może nie tylko o bezpośrednim wpływie czynników toksycznych wprowadzonych lub naniesionych drogą krwi, ale także i o wpływie pośrednim poprzez zmianę środowiska, co podnosi jego wartość i znaczenie dla procesów przemian komórkowych. Ze względu jednak na to, że w komórkach nabłonkowych i gruczołowych zupełnie nie udało się wykazać ziarenek arsenu i jego związków, skłonni jesteśmy do stwierdzenia, że obserwowane zaburzenia

fizjologiczne są raczej drugorzędne i spowodowane zmianą środowiska, a tym samym nie są specyficzne dla arsenu.

Arsen i jego związki zmagazynowane przez układ komórek czynnej mezenchymy pozostają w ustroju zwierzęcia przez czas dłuższy. Jeszcze po 30 dniach od chwili ostatniego podania arsenu można było wykazać w śródbłonkach naczyń włosowatych mniejszą lub większą ilość ziarenek arsenu. W komórkach histiocytarnych w tym czasie prawie całkowicie nie można było odnaleźć poszukiwanych ziarenek. Usuwanie niezwiązanego arsenu i związanego pod postacią białczanów arsenu odbywa się najprawdopodobniej na drodze krwionośnej i w końcu przez nerki.

PIŚMIENNICTWO

1. Aladow A.: Charkowsky Med. Journal Vol. 11, Nr 5, 1911.
2. Andreew N.: Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Vol. 205, str. 263, 1911.
3. Autenrieth W. — Taege H.: Münch. med. Wochenschft Nr 42, str. 1479, 1922.
4. Baum O. — Herrenheiser G.: Wiener Klin. Wochenschft. Nr 24, str. 843, 1914.
5. Bergmann H.: Biochem. Zeitschft. Vol. 90, str: 348, 1918:
6. Bernhardt R.: Przegl. Dermatol. Vol. 18, str: 34, 1923:
7. Blumenthal F.: Deutsch. med. Wochenschft. Nr 26, str. 1065, 1907.
8. Blumenthal F. - Jacoby E.: Med. Klin. Nr 45, str. 1365, 1907.
9. Bornstein A.: Deutsch. med. Wochenschft. Nr 3, str. 112, 1911.
10. Bornstein A. - Prost H.: Arch. f. Dermat. Syphil. Vol. 129, str. 159, 1921.
11. Bruhns C.: Med. Klinik. Nr 10, 1924.
12. Castel P.: Bull. Histol. Appliq. Vol. 13, str. 106, 1936.
13. Engwer D.: Münch. med. Wochenschft. Nr 14, str. 446, 1917.
14. Fischer Ph. - Hoppe J.: Münch. med. Wochenschft. Nr 29, str. 1459, 1909.
15. Fischer W. - Zernick F.: Berl. klin Wochenschft. Nr 34, 1911.
16. Frenkel Heiden-Navassart E.: Berlin. klinisch. Wochenschft. Nr 30, str. 1367, 1911.
17. Frenkel Heiden-Navassart E.: Zeitsch. f. exper. Pathol. u. Therap. Vol. 13, str. 531, 1913.
18. Grzycki St.. Medycyna Weterynar. Nr 10, str. 650, 1947.
19. Grzycki St. - Kobusówna B.: Annales Universit. M. C. Skłodowska. Vol. IV. Sectio D., str. 19, 1949.
20. Grzycki St. - Kobusówna B.: Journ. Neuropath. a. Exper. Neurol. Vol. 10, str. 325. 1951.
21. Hamperl H.: Virch. Arch. Vol. 259, str. 179, 1926.
22. Hamperl H.: Virch. Arch. Vol. 286, str. 811, 1932.

23. Hata S. - Shiga K.: Paul Ehrlich Festschft. Jena, 1914, str. 583.
24. Herxheimer G. - Gerlach W.: Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. Vol. 68, str. 93, 1921.
25. Jacobsohn F. - Sklarz E.: Med. Klinik Nr 44, 1921.
26. Jacobsohn F. - Sklarz E.: Med. Klinik Nr 18, str. 567, 1922.
27. Kochmann M.: Münch. med. Wochenschft. Nr 1, str. 18, 1912.
28. Kolmer J. A. - Schamberg J. F.: Journ. of exper. Med. Vol. 15, str. 498, 1912.
29. Mathieu L.: Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 86, str. 1029, 1922.
30. Mucha V. - Ketron L. W.: Wiener. Med. Wochenschft. Nr 38, str. 2379, 1913.
31. Mucha V. - Ketron L. W.: Wiener. med. Wochenschft. Nr 44, str. 2844, 1913.
32. Mucha V. - Ketron L. W.: Wiener. med. Wochenschft. Nr 45, str. 2909, 1913.
33. Mucha V.: Wiener klinisch. Wochenschft. Nr 27, str. 963, 1911.
34. Mucha V.: Wiener. klinisch. Wochenschft. Nr 28, str. 1012, 1911.
35. Müller H., Metz A., Myers C.: Arch. of Dermatol. Syphil. Vol. 2, 1927.
36. Oliver J. - Douglas E.: Journ. of. Pharmac. exper. Therap. Vol. 19, str. 187, 1922.
37. Oliver J. - Douglas E.: Arch. of. Dermatol. Syphil. Vol. 7, str. 778, 1923.
38. Riebes E.: Arch. f. Dermatol. Syphil. Vol. 118, str. 757, 1913.
39. Saccone A.: Riforma Medic. Vol. 28, str. 319, 1912.
40. Schumacher J.: Med. Klinik. Nr 5, str. 159, 1922.
41. Sicard J. A. - Bloch M.: Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 69, str. 625, 1910.
42. Stern C.: Deutsch. med. Wochenschft. Nr 14, str. 416, 1916.
43. Stern C.: Deutsch. med. Wochenschft. Nr 41, str. 1127, 1919
44. Stühmer A.: Arch. f. Dermatol. Syphil. Vol. 120, str. 589, 1914.
45. Stühmer A.: Münch. med. Wochenschft. Nr 45, str. 2447, 1912.
46. Stühmer A.: Münch. med. Wochenschft. Nr 40, str. 1295, 1917.
47. Ullmann K.: Arch. f. Dermatol. Vol. 114, str. 511, 1913.
48. Ullmann K.: Wiener Klin. Wochenschft. Nr 28, str. 1181, 1913.
49. Ullmann K.: Wiener Klin. Wochenschft. Nr 24, str. 838, 1914.
50. Underhill F. P. - Davis S. H.: Arch. of. Dermatol. Syphil. Vol. 5, str. 40, 1922.
51. Voegtlin C., Dyer H. A., Leonard C. S.: Publ. Health. Rep. Vol. 38, str. 1815, 1923.
52. Voegtlin C., Smith M. J., Dyer H., Thompson J. W.: Publ. Health. Rep. Vol. 38, str. 1003, 1923.
53. Woyciechowski J. i Zalewski J.: Przegl. Dermatol. Vol. 21, str. 143, 1926.

РЕЗЮМЕ

Эксперименты производились на кроликах-альбиносах, которым подавались per os и вливались внутривенно растворы мышьяковистой кислоты и калийного арсина, а также новарсенобензола и неосальварсана.

Мышьяк и его соединения, несмотря на способ подачи всегда захватываются и хранятся в плазме клеток активной мезенхимы соответствующих тканей, так как можно было их найти в клетках Купфера в эндотелии синусов и капилляров селезенки, а также в блуждающих и оседлых гистиоцитах подкожной ткани и собственно кожи, в эндотелии капилляров легких, сердца и почек. В центральной нервной системе фагоцитарными свойствами по отношению к мышьяку и его соединениям обладают прежде всего эндотелиальные клетки капилляров серого и белого веществ мозга, мозжечка и спинного мозга. а также мезоглияльные клетки Гортеги.

В слизистой и подслизистой оболочках пищеварительного аппарата по нашим экспериментам, можно было наблюдать окрашенные зернышки мышьяка не только в эндотелии капилляров, но также во всех клетках гистиоцитарного типа, выступающих в подстилающей соединительной ткани. Можно было даже наблюдать полное уничтожение эндотелия и возникание малых точковидных кровоизлияний.

Вокруг расширенных в виде синусов кровеносных и лимфатических сосудов, скоплялись обычно фагоцитарные разной формы клетки, а также лейкоциты, лимфоциты и гепариноциты.

Зернышки мышьяка можно было видеть лишь в гистиоцитах, причем способность к окрашиванию их ядер и цитоплазмы ослабевала параллельно с увеличиванием количества мышьяка. Весьма, стало быть, возможно что таким именно путем происходит отравление клеток белковыми соединениями мышьяка, которое в конечном итоге ведет к поражению фагоцитарных и оборонительных способностей системы клеток активной мезенхимы. С аналогическим ослабеванием способности к окрашиванию у ядер и цитоплазмы с одновременными, далеко идущими морфологическими изменениями мы встретились и в клетках эндотелияльных капилляров. Эти изменения усиливались в зависимости от количества и продолжительности залегания мышьяка в клетках.

На основании наших наблюдений кажется, что мышьяк после непосредственного соприкосновения с клеткой дает химические соединения с белками протоплазмы и ядра, в результате чего образуются отравляющие протеинаты мышьяка.

Наличия протеинатов мышьяка пока еще нельзя обнаружить никакими цветными цитохимическими методами, хотя их количество прямопропорционально к состоянию и качеству морфологических и физиологических изменений клетки. Эти изменения однако являются обратнопропорциональными к возможности обнаруживания несвязанного мышьяка. Протеинаты мышьяка дезорганизируют обмен веществ и изменяют динамическую степень ядерно-протоплазматического клеточного обмена веществ.

В эндотелияльных клетках слизистой оболочки, в клетках желез пищеварительного аппарата зернышек мышьяка не найдено. Выступающие однако некоторые отклонения в цитоморфологии и цитофизиологии эпителия и желез, сказывающиеся у некоторых клеток в повышении способности к окрашиванию и в увеличении числа зернистых цитоплазматических структур, а у других же клеток—в уменьшении их числа и даже в полном исчезновении их при совместном выступлении дезорганизационных процессов и некротических изменений, могут свидетельствовать не только о непосредственном влиянии токсических факторов, введенных или внесенных током крови, но и о посредственном влиянии, вызванном изменением среды, что повышает его ценность и значение для процессов перемен в клетках. Однако ввиду того, что в эпителиальных и железистых клетках совершенно не удалось обнаружить зерен мышьяка и его соединений, автор склонен выдвинуть предположение, что наблюдаемые физиологические нарушения имеют скорее второстепенный характер и вызваны переменой среды, и тем самым не специфические для мышьяка.

Ишьяк и его соединения скопляющиеся в системе клеток активной мезенхимы, хранятся в организме животного более продолжительное время.

Еще спустя 30 дней с момента последней подачи мышьяка можно было наблюдать в эндотелии капилляров меньшее или большее число зернышек мышьяка. В то же время в гистиоцитах почти совершенно нельзя было найти зернышек арсена. Удаляние как несвязанного, так и связанного мышьяка (протеинаты мышьяка) происходит, по всей вероятности, через кровеносные сосуды и наконец через почки.

SUMMARY

Investigations were carried out on albino rats, which were given per os and intravenously solutions of arsenious acid and potassium arsenite, as well as Novarsenobenzol and Neosalvarsan.

Arsenic and its compounds, independently of the way of administering them, are always taken up and stored intracellularly by the active mesenchyme cells of the corresponding tissues. The author observed this phenomenon in Browicz - Kupffer's cells, in the endothelium of the sinuses and capillaries of the spleen, in the resting and wandering histiocytes of the subcuticular tissue and of the cutis, as well as in the endothelium of the capillaries of the lungs, heart, and kidneys. In the central nervous system the phagocytic capacity for taking up arsenic and its compounds was manifested first of all by the capillary endothelium of the grey and white matter of the brain, cerebellum, and spinal cord, and then by Hortega's mezoglial cells. In the author's examination of the mucous and submucous membrane of the alimentary canal, stained grains of arsenic were seen not only in the endothelium of the capillaries, but also in all cells of the histiocytic type of the connective tissue. Sometimes the changes went as far as complete destruction of the endothelium and appearance of small spotty haemorrhages.

Round the sinuously dilated blood — and lymphatic vessels were usually grouped polymorphic phagocytes, as well as leucocytes, lymphocytes, and heparinocytes. The presence of arsenic grains could be demonstrated only in the histiocytic cells: the stainability of their nuclei and cytoplasm decreased in proportion to the increase of the amount of arsenic. It is possible that this was the picture of the poisoning of the cells with the protein compounds of arsenic, which finally brings about the abolition of phagocytic and defensive properties of the system of active mesenchyme cells. A similar decline of stainability of nuclei and cytoplasm, connected with far-reaching morphological changes, was also observed in the cells of the capillary endothelium. The intensity of those changes increased in proportion to the amount of arsenic and to the length of its stay in the cells.

On ground of his investigations carried out so far, the author is of the opinion that arsenic, after it has come into contact with

the cells, forms toxic compounds with the proteins of the plasm and nucleus. For the time being no such compounds of arsenic can be discovered by any cytochemical staining method: it is nevertheless evident that their amount is in direct proportion to the scope and quality of the morphological and physiological changes in the cell. These changes, again, are in reverse relation to the possibility of demonstrating the presence of free arsenic. Protein compounds of arsenic disorganize the metabolism and change the dynamic value of the nucleo-plasmatic processes going on in the cells.

No grains of arsenic were found either in the cells of the epithelium of the mucous membrane or in the glandular cells of the alimentary canal. On the other hand, the existing deviations in the cytomorphology and cytophysiology of the epithelium and glands, manifested in some cells by overstainability and by increase of the number of granular cytoplasmatic structures, in others by their decrease in number or even complete disappearance, together with the presence of disorganization processes and necrotic changes, may suggest not only a direct influence of introduced toxic agents, but also an indirect influence through the change of the environment, a fact which emphasizes the value and importance of the latter for the processes going on in the cells. Since however, it was not possible to demonstrate the presence of grains of arsenic and its compounds in the cells of the epithelium and glands, the author is inclined to accept that the observed physiological disturbances are of a secondary importance, being caused by the changes of the environment, and therefore not specific to arsenic.

Papier druk. sat. III kl. 80 g Format 70 x 100 Druku ark. 1+4 str.
Annales U. M. C S. Lublin 1954 Lub. Druk. Prasowa —Lublin, Buczka 12. Zam. 2353 27.VIII.1954 r.
825 egz. A-5-27266 Data otrzymania manuskryptu 27.VIII.1954 r. Data ukończenia druku 10 XI.54.